

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-296039

(43)Date of publication of application : 18.11.1997

51)Int.Cl. C08G 69/48
A61K 9/70
A61K 9/70
A61L 25/00
C08L 77/04
C08L 89/04
// (C08L 77/04
C08L 89:04)

21)Application number : 08-111495

(71)Applicant : EIWEISS KK

22)Date of filing : 02.05.1996

(72)Inventor : MIHASHI KENJI
IKADA YOSHITO
IWATA HIROO

54) ACTIVATED POLY-L-GLUTAMIC ACID, HEMOSTATIC OR MEDICAL BONDING KIT
PREPARED BY USING THE SAME, AND METHOD FOR USING THE KIT

57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an activated poly-L-glutamic acid having a long activity retention time by reacting a poly-L-glutamic acid wherein a specified proportion of the carboxyl groups are in the form of an active ester with an N-hydroxyamine ester derivative compound.
SOLUTION: A poly-L-glutamic acid is dissolved in a polar solvent and a specified amount of an N-hydroxyamine type active ester derivative compound (e.g. N-hydroxysuccinimide) and a dehydratively condensing agent (e.g. 1-ethyl-3-(dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride) are added to the solution. After the entire mixture is shaken at about 0-40° C for 3-24hr to effect a reaction, the product is washed and dried to obtain an activated poly-L-glutamic acid wherein 35-70% of the carboxyl groups are in the form an active ester. Next, a buffer solution obtained by dissolving gelatin having a spontaneous gelation temperature of 20-25° C, used in such an amount as to give a concentration of about 50 to 500mg/ml and having a pH of 7.0-7.6 is mixed with another buffer solution obtained by dissolving about 5 to 100mg/ml of the activated poly-L-glutamic acid and having a pH of 7.4-7.6 to obtain a mixture usable as a hemostatic or medical bonding kit.

LEGAL STATUS

Date of request for examination]

Date of sending the examiner's decision of rejection]

Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or

R1

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-296039

(43) 公開日 平成9年(1997)11月18日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 G 69/48	NRH		C 0 8 G 69/48	NRH
A 6 1 K 9/70	3 9 1		A 6 1 K 9/70	3 9 1
	3 9 4			3 9 4
A 6 1 L 25/00			A 6 1 L 25/00	A
C 0 8 L 77/04	L Q X		C 0 8 L 77/04	L Q X

審査請求 未請求 請求項の数5 OL (全7頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-111495

(22) 出願日 平成8年(1996)5月2日

(71) 出願人 390033927

アイバイツ株式会社

静岡県駿東郡小山町棚頭1295番地の1

(72) 発明者 三 橋 謙 二

静岡県駿東郡小山町棚頭1295-1 アイバ

イツ株式会社富士小山研究所内

(72) 発明者 筏 義 人

京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2番地182

(72) 発明者 岩 田 博 夫

大阪府三島郡島本町若山台1丁目5番8-

203

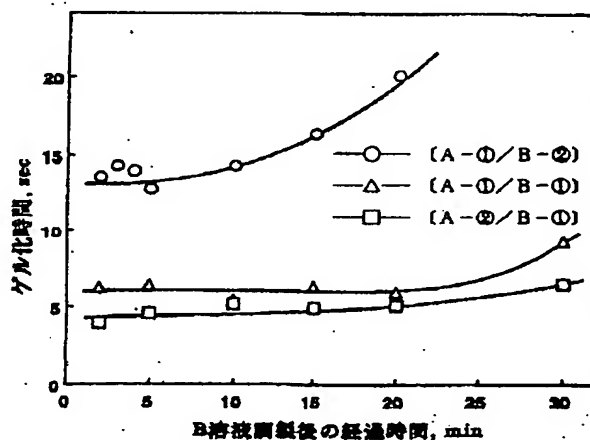
(74) 代理人 弁理士 鈴木 俊一郎

(54) 【発明の名称】 活性化ポリ-L-グルタミン酸、これを用いた止血用・医療用接着キット、および該キットの使用
方法

(57) 【要約】

【課題】 本発明は、活性エステル化ポリ-L-グルタミン酸を溶液とする場合に、その活性度保持時間（ポットライフ）をより長くするとともに、ゼラチンとの架橋反応によって、速やかにゲル化し、十分な接着強度を発現する医用接着剤を提供することを目的としている。

【解決手段】 本発明に係る活性化ポリ-L-グルタミン酸は、ポリ-L-グルタミン酸と、N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物とを反応させて得られ、反応前のポリ-L-グルタミン酸中の全カルボキシル基の35～70%が、活性エステル化されてなることを特徴としている。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ポリマーレーグルタミン酸と、N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物とを反応させて得られ、

反応前のポリマーレーグルタミン酸中の全カルボキシル基の35～70%が、活性エステル化されてなることを特徴とする活性化ポリマーレーグルタミン酸。

【請求項 2】 請求項 1 に記載の活性化ポリマーレーグルタミン酸と、ゼラチンとから構成される止血用・医療用接着キット。

【請求項 3】 前記活性化ポリマーレーグルタミン酸を、濃度5～100mg/mlに溶解して用いることを特徴とする請求項 2 に記載の止血用・医療用接着キットの使用方式。

【請求項 4】 前記活性化ポリマーレーグルタミン酸を、pH7.0～8.0の緩衝液に溶解して用いることを特徴とする請求項 2 に記載の止血用・医療用接着キットの使用方式。

【請求項 5】 前記ゼラチンとして、自然ゲル化温度が20～27℃のゼラチンを用いることを特徴とする請求項 2 に記載の止血用・医療用接着キットの使用方式。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の技術分野】 本発明は、活性エステル基の導入率の高い、新規な活性化ポリマーレーグルタミン酸に関する。また本発明は、この活性化ポリマーレーグルタミン酸を用いた止血用・医療用接着キットならびにその使用方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 医用の接着剤あるいは止血剤には、生体適合性、無毒性等が要求される。このため、血液由来のフィブリン糊が止血剤あるいは医療用接着剤として用いられている。

【0003】 しかしながら、フィブリン糊は、血液由来であるため、その絶対的供給量には限界があり、また感染症の原因となる危険性もある。このため、非血液系の止血用・医療用接着剤の開発が種々検討されている。

【0004】 このような止血用・医療用接着剤には、次のような条件が要求されている。すなわち、1) 出血部に塗布する前は液状であり、塗布後はできる限り速やかにゲル化すること、2) ゲル化物は生体組織によく接着し、出血を阻止できること、3) ゲル化物は出血部の創傷治癒を邪魔しないこと、4) そのゲル化物は、創傷治癒後、できるだけ速やかに体内において分解し、消滅すること、5) 原料も分解生成物も毒性を示さないこと、6) 高価でないこと、などである。

【0005】 ところで、ゼラチンは生体に含まれるコラーゲンから得られるタンパク質として知られ、安全性に優れ、また、生体内で分解、消失する特性を活かし、医療分野ではカプセル剤をはじめとする多岐の応用されて

いる。また、かかるゼラチンをゲル化し、生体に対する接着剤、止血剤として用いる試みもなされている。

【0006】 このような状況下で、本発明者らは、ゼラチンと活性化ポリマーレーグルタミン酸との架橋反応に着目し、検討を行ってきた。種々の活性化ポリマーレーグルタミン酸の中でも、無毒性等の点から、スクシンミド化ポリマーレーグルタミン酸が好ましいと考えられる。

【0007】 ところで、スクシンミド化ポリマーレーグルタミン酸を用いる場合には、その活性度保持時間（ポットライフ）が短いことが実用上の欠点として挙げられる。医療現場においては、活性化ポリマーレーグルタミン酸を何らかの溶媒に溶解し、この活性化ポリマーレーグルタミン酸溶液とゼラチン溶液とを用いて接着作業が行われることになる。

【0008】 しかしながら、スクシンイミド基の導入率の低いポリマーレーグルタミン酸を溶液の状態に保つと、溶解後短時間で失活してしまい、ゼラチン溶液と反応させてもゲル化しなくなり、接着できなくなってしまう。このため、医療現場において、スクシンイミド化ポリマーレーグルタミン酸溶液調製のタイミングが重要になり、時間的な制約を受けることになる。

【0009】 さらに、スクシンイミド基の導入率の低いポリマーレーグルタミン酸とゼラチンとの架橋物では、ゲル化速度や接着強度が、フィブリン糊と比し、十分ではないという欠点もある。

【0010】

【発明の目的】 本発明は、活性化ポリマーレーグルタミン酸を溶液とする場合に、その活性度保持時間（ポットライフ）をより長くするとともに、ゼラチンとの架橋反応によって、速やかにゲル化し、十分な接着強度を発現する止血用・医療用接着剤を提供することを目的としている。

【0011】

【発明の概要】 本発明に係る活性化ポリマーレーグルタミン酸は、ポリマーレーグルタミン酸と、N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物とを反応させて得られ、反応前のポリマーレーグルタミン酸中の全カルボキシル基の35～70%が、活性エステル化されてなることを特徴としている。

【0012】 本発明に係る止血用・医療用接着キットは、上記の活性化ポリマーレーグルタミン酸と、ゼラチンとから構成される。上記の活性化ポリマーレーグルタミン酸は、濃度5～100mg/mlに溶解して用いることが好ましい。また、該活性化ポリマーレーグルタミン酸は、pH7.0～8.0の緩衝液に溶解して用いることが好ましい。

【0013】 さらに、本発明においては、ゼラチンとして、自然ゲル化温度が20～27℃のゼラチンを用いることが特に好ましい。上記のような活性エステル基の導入率の高い活性化ポリマーレーグルタミン酸は、溶液にし

た場合の活性度保持時間が長く、医療現場での実用性の向上に大きく寄与する。また、かかる活性化ポリーレーグルタミン酸とゼラチンとの架橋反応によって、速やかにゲル化し、接着強度の大きな接着剤が形成される。

【0014】

【発明の具体的説明】本発明に係る活性化ポリーレーグルタミン酸は、ポリーレーグルタミン酸と、N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物とを脱水縮合剤の存在下に反応させることで得られる。

【0015】ポリーレーグルタミン酸は、たとえば、「Ajikoat（味の素社製）」の商品名で市販されているポリーレーグルタミン酸ナトリウム水溶液を透析することで得られる。

【0016】N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物としては、たとえば、N-ヒドロキシスクシンイミド、N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボン酸イミド、2-ヒドロキシイミノ-2-シアノ酢酸エチルエステル、2-ヒドロキシイミノ-2-シアノ酢酸アミド、N-ヒドロキシピペリジン等のペプチド合成において汎用の活性エステル誘導性化合物が用いられる。これらの中でも、本発明においては、特にN-ヒドロキシスクシンイミドが好ましい。

【0017】脱水縮合剤としては、たとえば1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩（EDC・HCl）、1-シクロヘキシル-(2-モルホリル-4-エチル)-カルボジイミド・メソ-トルエンスルホネート等のペプチド合成において汎用の水溶性縮合剤が用いられる。

【0018】本発明の活性化ポリーレーグルタミン酸では、反応前のポリーレーグルタミン酸中の全カルボキシル基の35~70モル%、好ましくは40~65モル%が、上記活性エステル誘導性化合物によって活性エステル化されてなる。

【0019】このような活性エステル基の導入率の高い活性化ポリーレーグルタミン酸は、溶液にした場合にも活性を長く持続し、その活性度持続時間は、室温において、10分以上、特に良好なものでは10分~30分程度あるいはそれ以上である。一方、活性エステル基の導入率が低いと、活性度持続時間は比較的短く、医療現場における要求に応えることは難しい。

【0020】活性エステル基の導入率を高くするには、脱水縮合反応時におけるN-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物の仕込量を調製すればよく、具体的には、ポリーレーグルタミン酸の全カルボキシル基のモル数に対し、40モル%を超え、好ましくは45~70モル%のN-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物を仕込めばよい。

【0021】この際、脱水縮合剤は、N-ヒドロキシアミン系活性エステル誘導性化合物1モルに対し、1~3モル、好ましくは1.0~1.5モル程度の量で用いられ

る。反応溶媒は、特に限定はされないが、非プロトン性極性溶媒を好ましく用いられ、特にDMSOが好ましく用いられる。

【0022】反応温度は、-10~70℃、好ましくは0~40℃程度であり、反応時間は反応温度により様々であるが、通常は1~48時間、好ましくは3~24時間程度である。

【0023】反応終了後、未反応物、副生成物、反応溶媒を再沈・濾過・洗浄等の手段で除去し、本発明に係る活性化ポリーレーグルタミン酸が得られる。この活性化ポリーレーグルタミン酸は固体状態で安定であり、その活性エステル基導入率は、たとえば、Biochemistry vol. 14, No. 7 (1975), 1535-1541に記載の方法に準じて決定される。

【0024】本発明に係る止血用・医療用接着キットは、上記の活性化ポリーレーグルタミン酸と、ゼラチンとから構成されている。本発明におけるゼラチンとしては、ヒト、牛、豚等の生体に含まれる骨あるいは皮膚等から得たものが使用できる。このようなゼラチンは、コラーゲンを酸、アルカリ、酵素等により適宜処理して得られる。

【0025】本発明に係る止血用・医療用接着キットを医療現場で使用する際には、まず上記の活性化ポリーレーグルタミン酸を適宜な溶媒に溶解して活性化ポリーレーグルタミン酸溶液を調製するとともに、ゼラチンを適宜な溶媒に溶解してゼラチン溶液を調製しておく。次いで、接着の直前に上記の2液を混合して、接着、止血が必要とされる創部に塗布するか、あるいは上記の2液を別々に塗布することもできる。この結果、活性化ポリーレーグルタミン酸とゼラチンとのゲル化反応が起こり、短時間、好ましくは30秒以内にゲル化・接着が完了する。

【0026】この際、ゼラチン（固形分）100重量部に対して、活性化ポリーレーグルタミン酸（固形分）は、好ましくは1~100重量部、特に好ましくは2~70重量部の量で用いられる。

【0027】上記の止血用・医療用接着キットを使用する場合、前記活性化ポリーレーグルタミン酸を、濃度5~100mg/ml、好ましくは濃度7~60mg/mlに溶解して用いることが望ましい。

【0028】特に、本発明においては、前記活性化ポリーレーグルタミン酸を、pH7.0~8.0、好ましくはpH7.4~7.8の緩衝液に溶解して用いることが望ましい。pH7未満であると、活性化ポリーレーグルタミン酸が溶解しにくくなる場合がある。このような緩衝液としては、具体的には、McIlvaineの緩衝液（リン酸水素2ナトリウム-クエン酸）、Atkins-Pantinの緩衝液（ホウ酸+塩化カリウム-炭酸ナトリウム）、Palitzschの緩衝液（ホウ酸+塩化ナトリウム-4ホウ酸ナトリウム）、Hasting-Sendroyの緩衝液（リン酸水素2

ナトリウムーリン酸2水素カリウム)、Britton-Robinsonの広域緩衝液(酸混合液ー水酸化ナトリウム)等が用いられる。これらの中でも、Hasting-Sendroyの緩衝液(リン酸水素2ナトリウムーリン酸2水素カリウム)が好ましい。

【0029】また、本発明においては、ゼラチンとして、自然ゲル化温度が20~27℃、好ましくは20~25℃のゼラチンを用いることが望ましい。ここで、自然ゲル化温度とは、加熱溶解したゼラチン溶液を冷却しながら攪拌し、自然に固まった時点の温度をいう。このような自然ゲル化温度を有するゼラチンは、汎用のゼラチンを、加熱下でのアルカリ加水分解によって、低分子量化することで得られる。加熱は、オートクレーブ、沸騰水等により行われる。このようなゼラチンを用いると、操作性、接着強度、ゲル化速度がさらに向上する。

【0030】本発明の止血用・医療用接着キットを使用する場合、上記のゼラチンは、水、生理食塩水、炭酸水素ナトリウム、緩衝液等に溶解して用いる。この際の濃度は、好ましくは20~1000mg/ml、特に好ましくは50~500mg/ml程度である。ゼラチンの溶解に炭酸水素ナトリウムを用いる場合には、7%溶液(pH 8.3)を用いることが好ましい。このような炭酸水素ナトリウム溶液を用いると、ゲル化速度をさらに向上することができる。また、ゼラチンの溶解に緩衝液を用いる場合、そのpHは、好ましくは7.0~8.0、特に好ましくは生体適合性のある7.2~7.6程度である。このような緩衝液を用いることにより、接着力をさらに向上することができる。

【0031】以上のようにゲル化されるゼラチンは、ゲル化を直接患部で行いこれによる作用を発現させる、たとえば、生体接着剤あるいは、止血剤、血管塞栓剤、動脈瘤の封止剤等に用いることができる。また、一旦ゲル化させた後に、癒着防止剤あるいは薬物担体として用いることもできる。

【0032】なお、かかるゲルは、上記の用途に適用した後は、生体内で分解し、一定期間経過すると、吸収され、消失する特性があり、体内に異物として残存することがない。

【0033】

【発明の効果】上記のような活性エステル基の導入率の高い活性化ポリーレーグルタミン酸は、溶液にした場合の活性度保持時間が長く、医療現場での実用性の向上に大きく寄与する。また、かかる活性化ポリーレーグルタミン酸とゼラチンとの架橋反応によって、速やかにゲル化し、接着強度の大きな接着剤が形成される。

【0034】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づいて、さらに具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0035】なお、本実施例において、活性エステル基

として、スクシンイミド基を採用した。スクシンイミド基の導入率は、以下のように決定した。

【スクシンイミド基導入率の決定方法】まず、ヒドロキシスクシンイミドキャリアレーション標準溶液を調製し、次いでその補正式内におさまるように、活性化ポリーレーグルタミン酸のNaOH溶液を調製した。各濃度ヒドロキシスクシンイミド標準溶液1mlに対し、2N-NaOHを0.2ml加え、活性化ポリーレーグルタミン酸溶液とともに、60℃、10分加熱して加水分解を行った。加熱後、2N-HClを0.2ml加えて中和し、さらに0.85N-HClを1ml加え、活性化ポリーレーグルタミン酸溶液は、析出したポリマーを遠心分離器で除去した。除去後、0.05%FeCl₃/1N-HCl溶液を0.5ml加え、吸光度を3回測定し、この結果からスクシンイミド基の導入率を算出した。

【0036】

【実施例1】脱塩したポリーレーグルタミン酸(0.5g、3.88ミリモル)を、10mlのDMSOに溶解させ、N-ヒドロキシスクシンイミド(0.22g、1.94ミリモル)と、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド塩酸塩(0.37g、1.94ミリモル)を加えた後、22時間室温にて振とうした。反応後、無水アセトンにて再沈澱し、デカンテーションによってさらに2回洗浄してから、エーテルにて置換した後、生成物を減圧乾燥した。

【0037】この結果、スクシンイミド基の導入率が62.9モル%の活性化ポリーレーグルタミン酸0.72gが得られた。

【0038】

【比較例1】脱塩したポリーレーグルタミン酸(0.5g、3.88ミリモル)を、10mlのDMSOに溶解させ、N-ヒドロキシスクシンイミド(0.178g、1.55ミリモル)と、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド塩酸塩(0.30g、1.55ミリモル)を加えた後、22時間室温にて振とうした。反応後、無水アセトンにて再沈澱し、デカンテーションによってさらに2回洗浄してから、エーテルにて置換した後、生成物を減圧乾燥した。

【0039】この結果、スクシンイミド基の導入率が32.7モル%の活性化ポリーレーグルタミン酸0.48gが得られた。

【0040】

【比較例2】脱塩したポリーレーグルタミン酸(0.5g、3.88ミリモル)を、10mlのDMSOに溶解させ、N-ヒドロキシスクシンイミド(0.31g、2.72ミリモル)と、1-エチル-3-ジメチルアミノプロピルカルボジイミド塩酸塩(0.52g、2.72ミリモル)を加えた後、22時間室温にて振とうした。反応後、アセトンにて再沈澱したが、凝集してしまい、これ以上の処理ができなかった。

【0041】

【試験例1】

【活性度持続試験】実施例1および比較例1で得られた活性化ポリーレーグルタミン酸の活性度の持続性を以下の方法により評価した。

【評価法】 実施例1および比較例1で得られた活性化ポリーレーグルタミン酸を、それぞれ、pH 7.0、7.4、8.0のHasting-Sendroy リン酸緩衝液および、pH 8.3炭酸水素ナトリウム溶液（7%）に、2w/v %となるように溶解させた。

【0042】一方、ゼラチンをリン酸緩衝液（pH 7.4）に20w/v %に溶解し、16φの試験管に500μ

lとり、37℃の恒温水槽に漬けて、1cmのスターラーチップを一定速度で回転させた。

【0043】攪拌中のゼラチン溶液に、上記の活性化ポリーレーグルタミン酸を加えた際のゲル化時間を、活性化ポリーレーグルタミン酸溶液調製後の経過時間毎に測定し、活性度の持続性を評価した。なお、ゲル化時間とは、活性化ポリーレーグルタミン酸溶液添加後の、スターラーチップが停止するまでの時間をいう。

【0044】結果を表1に示す。

【0045】

【表1】

活性化ポリー レーグルタミン酸 溶液調製後の 経過時間 (分)	ゲル化時間 (秒)							
	実施例1				比較例1			
	pH 8.3	pH 7.8	pH 7.4	pH 7.0	pH 8.3	pH 7.8	pH 7.4	pH 7.0
5	7.0	11.3	13.3	19.0	10.0	20.2	19.5	22.7
10	11.0	16.1	15.7	17.8	20.0	31.6	30.5	33.6
15	×	20.6	17.7	18.1	×	×	45.9	49.7
20	×	20.9	19.9	16.6	×	×	×	×

×：ゲル化せず

【0046】上記の結果より、スクシンイミド基の導入率の高い活性化ポリーレーグルタミン酸の方が、活性度の持続時間が長いことが判明した。また、pHが高いとゲル化速度は速くなるが、失活も速くなり、一方、pHが低いとゲル化速度は遅いが、活性度が持続することが判った。特に、pH 7.4～7.8において最も良好な結果が得られると考えられる。

【0047】

【試験例2】実施例1で得られた活性化ポリーレーグルタミン酸を用い、表2に示すA-①およびA-②溶液を調製した。一方、自然ゲル化温度が24℃のゼラチンを用いて、表2に示すB-①およびB-②溶液を調製した。

【0048】

【表2】

A溶液とB溶液の溶媒と溶質濃度

	A溶液	B溶液
溶質	活性化ポリーレーグルタミン酸 (実施例1で製造)	ゼラチン 自然ゲル化温度：24℃
溶媒・溶質濃度	①リン酸緩衝液 (pH 7.4) 2w/v %	①7%NaHCO ₃ 溶液 (pH 8.3) 20w/v %
	②リン酸緩衝液 (pH 7.4) 4w/v %	②リン酸緩衝液 (pH 7.4) 20w/v %

【0049】上記のA-①およびA-②溶液および、B

①およびB-②溶液を用いて、試験例1と同様にしてゲル化時間を測定した。結果を図1に示す。臨床応用される際に、20分程度その活性を維持できていれば操作性は充分と考えられるため、ゼラチン溶液をリン酸緩衝液（pH 7.4）または7%炭酸水素ナトリウム溶液（pH 8.3）のどちらにしても失活に対する問題はないと考えられる。

【0050】

【試験例3】

【低分子量化したゼラチンと活性化ポリーレーグルタミン酸とのゲル化時間の測定による最適自然ゲル化温度の決定】

【試験方法】ゼラチンを20w/v %になるように蒸留水に溶解し、10N-NaOH水溶液にてpHを11に調製した。そのゼラチン溶液を沸騰水中にて加熱し、その加熱時間によって加水分解を調節した。得られた低分子量化ゼラチンの自然ゲル化温度は、24℃と、22℃で、加熱後、7.2N-HClにより中和し、アセトン再沈澱にて回収後、減圧乾燥した。

【0051】実施例1で得られた活性化ポリーレーグルタミン酸を、pH 7.4のリン酸緩衝液に2w/v %となるように溶解し、上記ゼラチン溶液を用いて、試験例1と同様にしてゲル化時間を測定した。

【0052】結果を表3に示す。

【0053】

【表3】

活性化ポリ- L-グルタミン酸 溶液調製後 の経過時間 (分)	ゲル化時間 (秒)	
	自然ゲル化温度	
	22℃	24℃
2	15.1	13.5
3	16.0	14.3
4	14.8	14.0
5	16.8	12.8
10	18.1	14.3
15	21.5	18.0
20	24.2	22.2

【0054】臨床で用いられる時に、手術室の温度は約25℃以上であることから、自然ゲル化温度が25℃以下でかつ最も25℃に近いものが望ましい。表3から、

活性化ポリ-L-グルタミン酸の濃度/溶媒 低分子量ゼラチンの濃度/溶媒	液量, μL	接着強度, g
2w/v %/リン酸緩衝液	100	266.0
20w/v %/リン酸緩衝液	100	
2w/v %/リン酸緩衝液	100	60.1
20w/v %/7%NaHCO ₃ 溶液	100	

【0058】図1および表4より、ゼラチンをリン酸緩衝液に溶解した場合（図1の○プロット参照）、ゲル化速度は比較的遅いが、接着強度に優れることが判明した。一方、ゼラチンを7%炭酸水素ナトリウム溶液に溶解した場合（図1の△プロット参照）、ゲル化速度に優れるものの、接着強度が比較的低いことが判った。このことから、前者は生体接着剤として、後者は止血剤としての用途が期待できる。

【0059】

【試験例5】

〔イヌの肝臓断端面を用いた止血試験〕イヌの肝臓断端面を用いた止血試験をおこなった。

22℃のものよりも24℃のものの方がゲル化時間が速く、また25℃に近いことから最適であると判断される。

【0055】

【試験例4】

〔接着試験〕新鮮な豚皮を3×3cm四方に切り、そのうち3×0.5cmを切り取って、露出した真皮部分を接着面とした。両接着面に、実施例1で得られた活性化ポリ-L-グルタミン酸10mgをリン酸緩衝液（pH7.4）500 μL に溶解させたものと、表4に示す20w/v %ゼラチン各溶液をそれぞれ100 μL ずつ塗布し、1分間750gの荷重をかけた後、10分間放置後の接着強度をオートグラフ（引張試験機）を用いて測定した。なお、ゼラチンは、自然ゲル化温度24℃のものをを用いた。

【0056】結果を表4に示す。

【0057】

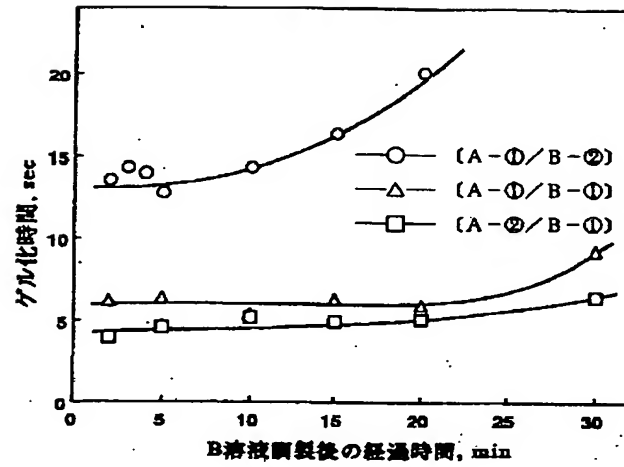
【表4】

【0060】イヌの腹部を開いて肝臓を露出させ約1×2～3cmの肝断面を作り、電気メスで焼き、ある程度止血した。そこに表2に示すA-①溶液およびB-①溶液を、二液同時注射器を用いて塗布した（全量10ml）。15日後そのイヌを犠牲死させて肝臓を取り出したところ、ほとんど治癒していて、創傷面の確認が困難であった。このことから、本発明に係る活性化ポリ-L-グルタミン酸を用いた止血剤は、フィブリン糊よりも止血効果が高く、自然治癒を妨げないことがわかった。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、試験例2の結果を示す。

【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

C O 8 L 89/04

//(C O 8 L 77/04

89:04)

識別記号

L S E

庁内整理番号

F I

C O 8 L 89/04

技術表示箇所

L S E